

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/JP05/002045

International filing date: 10 February 2005 (10.02.2005)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: JP
Number: 2004-036424
Filing date: 13 February 2004 (13.02.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 12 May 2005 (12.05.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

15. 3. 2005

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 2 0 0 4 年 2 月 1 3 日
Date of Application:

出 願 番 号 特 願 2 0 0 4 - 0 3 6 4 2 4
Application Number:

パリ条約による外国への出願
に用いる優先権の主張の基礎
となる出願の国コードと出願
番号
The country code and number
of your priority application,
to be used for filing abroad
under the Paris Convention, is

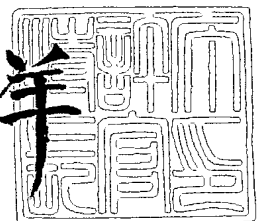
J P 2 0 0 4 - 0 3 6 4 2 4

出 願 人 オムロン株式会社
Applicant(s):

2 0 0 5 年 4 月 1 9 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

小 川 洋



出証番号 出証特 2 0 0 5 - 3 0 3 5 3 2 1

【書類名】 特許願
【整理番号】 62864
【あて先】 特許庁長官殿
【国際特許分類】 G01N 21/27
【発明者】
 【住所又は居所】 京都府京都市下京区塩小路通堀川東入南不動堂町 8 0 1 番地 オムロン株式会社内
 【氏名】 西川 武男
【発明者】
 【住所又は居所】 京都府相楽郡木津町兜台 7 丁目 1 3 - 1 5
 【氏名】 青山 茂
【発明者】
 【住所又は居所】 京都府京都市下京区塩小路通堀川東入南不動堂町 8 0 1 番地 オムロン株式会社内
 【氏名】 松下 智彦
【発明者】
 【住所又は居所】 大阪府茨木市北春日丘四丁目 9 番 1 号
 【氏名】 乗岡 茂巳
【発明者】
 【住所又は居所】 大阪府吹田市藤白台 1 - 1 - D 3 0 - 1 0 5 千里藤白台リッツハウス D 3 0
 【氏名】 和沢 鉄一
【特許出願人】
 【識別番号】 000002945
 【氏名又は名称】 オムロン株式会社
 【代表者】 作田 久男
【手数料の表示】
 【予納台帳番号】 038508
 【納付金額】 21,000円
【提出物件の目録】
 【物件名】 特許請求の範囲 1
 【物件名】 明細書 1
 【物件名】 図面 1
 【物件名】 要約書 1

【書類名】 特許請求の範囲**【請求項 1】**

平坦な表面を備えた透光性の基板と、前記表面を覆うように形成された金属薄膜と、前記金属薄膜上に互いに間隔を空けて固定化された複数の金属微粒子とを備えた、表面プラズモン共鳴センサー用チップ。

【請求項 2】

平坦な表面を備えた透光性の基板と、前記表面を覆うように形成された金属薄膜とを備え、前記金属薄膜には、互いに間隔を空けて複数の微小凹部または微小凸部が形成されており、前記微小凹部は、前記金属薄膜を貫通していないことを特徴とする、表面プラズモン共鳴センサー用チップ。

【請求項 3】

透光性の基板と、金属薄膜とを備え、前記基板の片側表面には、間隔を空けて複数の微小凸部または微小凹部が形成されており、前記金属薄膜は、前記微小凸部または微小凹部の形状を反映するように、前記基板の片側表面上に形成されていることを特徴とする、表面プラズモン共鳴センサー用チップ。

【請求項 4】

前記金属が、金または銀である、請求項 1～3 のいずれか一項に記載の表面プラズモン共鳴センサー用チップ。

【請求項 5】

基板の片側表面にスパッタリングまたは蒸着により金属薄膜を形成する工程と、前記金属薄膜の表面を化学修飾する工程と、前記化学修飾した基板を金属微粒子の溶液に浸漬する工程とを含む、表面プラズモン共鳴センサー用チップの製造方法。

【請求項 6】

基板の片側表面をアミノシランカップリング剤の溶液に浸漬する工程と、前記基板を金属微粒子の溶液に浸漬する工程と、前記基板を洗浄する工程と、前記片側表面にスパッタリングまたは蒸着により金属薄膜を形成する工程とを含む、表面プラズモン共鳴センサー用チップの製造方法。

【請求項 7】

請求項 1 に記載のチップと、前記チップの前記金属薄膜が形成されていない側に配置されたプリズムと、前記チップに前記プリズムを介して光を照射する光源と、前記金属薄膜および前記金属微粒子による光の反射率を測定する光検出器とを備えた表面プラズモン共鳴センサー。

【書類名】明細書

【発明の名称】表面プラズモン共鳴センサー

【技術分野】

【0001】

本発明は、表面プラズモン共鳴 (SPR: surface plasmon resonance) センサーに関し、より詳細には、タンパク質やDNAといった生体分子の相互作用を検出するのに適した表面プラズモン共鳴センサーに関する。

【背景技術】

【0002】

近年、生体分子の相互作用の有無または程度を検出するためのセンサーとして、表面プラズモン共鳴センサーが用いられている。

図1に、従来の表面プラズモン共鳴センサー1を示す。表面プラズモン共鳴センサー1は、ガラスなどからなる基板2と、基板2上に形成された金属薄膜3と、基板2の金属薄膜3が形成されていない側に配置されたプリズム4と、金属薄膜3とプリズム4との界面に対して種々の角度で光を入射させることができる光学系5と、金属薄膜3とプリズム4との界面で反射した光の強度を測定する光検出器6とを備える。金属薄膜3は、試料溶液と接しており、試料溶液中の抗原などのリガンド8は、金属薄膜3の表面に固定化された抗体などの受容体7と相互作用する。

【0003】

光学系5からの光を、金属薄膜3とプリズム4との界面で全反射するように、プリズム4に入射させると、金属薄膜3の表面に、電界分布をもつエバネッセント波が生じる。エバネッセント光の波数および周波数が、表面プラズモンの波数および周波数と一致するとき、両者は共鳴し、入射光のエネルギーが表面プラズモンに移行するので、反射光が減少する。

ここで、共鳴が起こるための入射角 (共鳴角) は、金属薄膜3の表面の屈折率に依存する。金属薄膜3に固定された受容体7と試料溶液中のリガンド8とが相互作用した場合、表面の屈折率が増加するため、共鳴角が増加する。この角度変化を測定することで、生体分子の相互作用を検出する。図2に、表面プラズモン共鳴センサー1により反応前後に測定した反射率の変化の例を示す。

【0004】

一方で、金属薄膜ではなく金属微粒子を膜状に固定した基板に対して光を照射し、金属微粒子を透過した光の吸光度を測定することによって、金属微粒子表面近傍の屈折率の変化を検出するようにした局在プラズモン共鳴センサーも提案されている (特許文献1)。

【特許文献1】特許第3452837号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

しかしながら、図1に示す表面プラズモン共鳴センサー1においては、金属薄膜から200nm程度の距離までの屈折率変化に影響されるため、金属薄膜に固定された生体分子の相互作用に基づく屈折率の変化のみならず、溶液部の濃度、pH、温度などの変化に基づく屈折率の変化もノイズとして検出されてしまうという問題点があった。

また、特許文献1に開示されている局在プラズモン共鳴センサーは、金属薄膜の代わりに金属微粒子膜を用いることで、発生する電場を金属微粒子表面近傍に局在化させ、溶液部における屈折率の変化の影響を小さくしているが、溶液部の影響を排除するものではなく、測定結果に対して溶液部の変化がどの程度影響しているのかが分からないという課題があった。

【課題を解決するための手段】

【0006】

本発明は、上述のような技術的課題に鑑みてなされたものであり、金属表面での分子の相互作用に基づく屈折率の変化および溶媒部での変化に基づく屈折率の変化をそれぞれ検

出することを目的としている。

本発明の表面プラズモン共鳴センサー用チップは、ある実施形態において、平坦な表面を備えた透光性の基板と、前記表面を覆うように形成された金属薄膜と、前記金属薄膜上に互いに間隔を空けて固定化された複数の金属微粒子とを備えていることを特徴とする。

【0007】

本発明の表面プラズモン共鳴センサー用チップは、別の実施形態において、平坦な表面を備えた透光性の基板と、前記表面を覆うように形成された金属薄膜とを備え、前記金属薄膜には、互いに間隔を空けて複数の微小凹部または微小凸部が形成されており、前記微小凹部は、前記金属薄膜を貫通していないことを特徴とする。

【0008】

本発明の表面プラズモン共鳴センサー用チップは、別の実施形態において、透光性の基板と、金属薄膜とを備え、前記基板の片側表面には、間隔を空けて複数の微小凸部または微小凹部が形成されており、前記金属薄膜は、前記微小凸部または微小凹部の形状を反映するように、前記基板の片側表面上に形成されていることを特徴とする。

【0009】

本発明の表面プラズモン共鳴センサー用チップの製造方法は、ある実施形態において、基板の片側表面にスパッタリングまたは蒸着により金属薄膜を形成する工程と、前記金属薄膜の表面を化学修飾する工程と、前記化学修飾された基板を金属微粒子の溶液に浸漬する工程とを含むことを特徴とする。

【0010】

本発明の表面プラズモン共鳴センサー用チップの製造方法は、別の実施形態において、基板の片側表面をアミノシランカップリング剤の溶液に浸漬する工程と、前記基板を金属微粒子の溶液に浸漬する工程と、前記基板を洗浄する工程と、前記片側表面にスパッタリングまたは蒸着により金属薄膜を形成する工程とを含むことを特徴とする。

【0011】

本発明の表面プラズモン共鳴センサーは、本発明に従った表面プラズモン共鳴センサー用チップと、前記チップの前記金属薄膜が形成されていない側に配置されたプリズムと、前記チップに前記プリズムを介して光を照射する光源と、前記金属薄膜および前記金属微粒子による光の反射率を測定する光検出器とを備えていることを特徴とする。

【発明の効果】

【0012】

本発明の表面プラズモン共鳴センサーは、プリズムの一面に形成される金属層が、薄膜状に形成された平坦部と、互いに間隔を空けて配置された金属微粒子などからなる凸部とからなっており、このような構成の金属層に対して光を入射した場合、平坦部および凸部の各々に起因した共鳴角が得られる。この特徴を利用することで、金属表面での分子の相互作用に基づく屈折率の変化および溶媒部での変化に基づく屈折率の変化を、それぞれ検出することができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0013】

以下、図面を参照しながら、本発明の好適な実施形態について説明する。

【実施例1】

【0014】

図3は、本発明の第1の実施形態による表面プラズモン共鳴センサー101の概略側面図を示す。表面プラズモン共鳴センサー101は、ガラスなどからなる基板102と、基板102上に形成された金属層103と、基板102の金属層103が形成されていない側に配置されたプリズム104と、金属層103とプリズム104との界面に対して光を入射させる光学系105と、金属層103とプリズム104との界面で反射した光の強度を測定する光検出器106とを備える。光学系105は、ある波長の光を種々の入射角度で入射させるものであっても良いし、種々の波長の光を一定の入射角度で入射させるものであっても良い。

【0015】

金属層103は、本実施形態において、薄膜状に形成された平坦部と、互いに間隔を空けて配置された金属微粒子とから構成されている。平坦部の厚みは、好ましくは、20～60nmであり、金属微粒子の径は、好ましくは、20～150nmである。金属層103は、代表的に、金または銀からなるがこれらに限定されない。金属層103の表面には、抗体などの受容体107が固定化されている。金属層103は、抗原などのリガンド108を含む試料溶液と接しており、リガンド108は、金属層103表面の受容体107と相互作用する。

【0016】

このような構成において、光学系105からの光を、金属層103とプリズム104との界面で全反射するように、プリズム104に入射させると、金属層103の表面に、エバネッセント波が生じる。エバネッセント光の波数および周波数が、表面プラズモンの波数および周波数と一致するとき、両者は共鳴し、反射光が減少する。この反射光の反射率を光検出器106により測定する。

【0017】

ここで、金属層103の表面で励起される表面プラズモンの電場について説明する。図4は、金属層103の表面に発生する電場の様子を概念的に示す図である。図4(a)は、金属微粒子の表面近傍（金属微粒子の半径（数十nm）程度の範囲）に局在化された電場（局在モード）を示す。図4(b)は、平坦部表面から数百nm程度の範囲に存在する電場（伝播モード）を示す。図5は、表面プラズモンの各モードと入射光との関係を示すグラフであり、縦軸は周波数(ω)、横軸は波数($k=2\pi/\lambda$)を示す。図5(a)、図5(b)は、それぞれ局在モードおよび伝播モードと入射光との関係を示しており、両モードとも入射光と一点で共鳴することが分かる。

【0018】

本実施形態のように、局在モードと伝播モードが混在する場合、表面プラズモンのモードは、図5(c)に示すようなハイブリッドモード(a-d、c-b)となる。図5(c)において、c-Q-dは局在モード、a-P-bは伝播モードである。このようなハイブリッドモードと入射光との関係を表すグラフを図6に示す。図6から明らかなように、ハイブリッドモードを形成した表面プラズモンは、入射光と二点(A、B)で共鳴する。

【0019】

しかして、種々の波長の光を一定の入射角度で入射させて反射率を測定した場合、図7(a)に示すように、2つの共鳴ピーク(A、B)が得られる。点線は、反応前の測定結果を、実線は、反応後の測定結果を示す。ピークAは、局在モードの電場に起因するもので、図6の点Aにおける共鳴に対応する。ピークBは、伝播モードの電場に起因するもので、図6の点Bにおける共鳴に対応する。

【0020】

また、異なる2つの波長の光を種々の入射角度で入射させて反射率を測定した場合は、図7(b)に示すように、それぞれ1つの共鳴ピーク(A、B)が得られる。点線は、反応前の測定結果を、実線は、反応後の測定結果を示す。短い波長（波長1）のピークAは、局在モードの電場に起因するもので、図6の点Aにおける共鳴に対応する。長い波長（波長2）のピークBは、伝播モードの電場に起因するもので、図6の点Bにおける共鳴に対応する。

【0021】

図8に示すように、種々の波長の光を一定の入射角度で入射させ、反応の前後で反射率の変化を測定した場合（図7(a)）に得られる共鳴ピークの変化($\Delta\lambda 1$ 、 $\Delta\lambda 2$)は、それぞれ、金属層103表面における受容体107とリガンド108との相互作用に基づく屈折率の変化($\Delta n 1$)および溶媒部での屈折率の変化($\Delta n 2$)の両方に影響を受けている。 $\Delta\lambda 1$ および $\Delta\lambda 2$ を、それぞれ $\Delta n 1$ 、 $\Delta n 2$ の関数として求めれば、二式を解くことで $\Delta n 1$ および $\Delta n 2$ を算出することができる。よって、溶媒部の変化を除いた金属層表面のみの変化を厳密に測定することができる。

【0022】

続いて、本実施形態で用いられる金属層 103 の製法について説明する。

第 1 の製法は、ガラスや樹脂からなる基板を洗浄する工程、該基板上に蒸着またはスパッタリングにより金薄膜を形成する工程、該金属薄膜上にジチオール（例えば、1, 10-デカンジチオール）の単分子層を形成する工程、および該基板を金微粒子の溶液に浸漬する工程を含む。本製法によれば、ジチオールを介して金薄膜に金微粒子を固定化することができる。

【0023】

第 2 の製法は、ガラスや樹脂からなる基板を洗浄する工程、該基板の片側表面をアミノシランカップリング剤（例えば、3-アミノプロピルトリメトキシシラン）の溶液に浸漬する工程、該片側表面を金微粒子の溶液に浸漬する工程、該基板を洗浄する工程と、該片側表面にスパッタリングまたは蒸着により金属薄膜を形成する工程を含む。本製法では、基板上にまず金粒子を固定化し、次いで金粒子の間に金薄膜からなる平坦部を形成する。

【実施例 2】**【0024】**

図 9 は、本発明の第 2 の実施形態による表面プラズモン共鳴センサー 201 の概略側面図を示す。本実施形態は、金属層 103 の構造において第 1 の実施形態と異なる。本実施形態における金属層 103 は、基板 102 の平坦な面上に金属薄膜を形成し、該金属薄膜上にエッチングなどにより微小凹凸を形成したものである。ただし、凹部は金属薄膜を貫通しないように形成される。このような金属層 103 を用いた場合においても、凹部または凸部近傍に電場が局在化するので、第 1 の実施形態と同様の効果を得ることができる。

なお、微小凹凸の形状および配置間隔は、図 9 に示されるものに限らず、適宜選択され得る。

【実施例 3】**【0025】**

図 10 は、本発明の第 3 の実施形態による表面プラズモン共鳴センサー 301 の概略側面図を示す。本実施形態は、基板 102 および金属層 103 の構造において第 1 の実施形態と異なる。本実施形態においては、基板 102 の表面に、間隔を空けて複数の微小凸部または微小凹部が形成されており、該微小凸部または微小凹部の形状を反映するように、基板 102 の上に金属層 103 が形成されている。このような金属層 103 を用いた場合においても、凹部または凸部近傍に電場が局在化するので、第 1 の実施形態と同様の効果を得ることができる。

【0026】

本実施形態で用いられる、表面に微小凹凸が形成された基板 102 は、金属微粒子やタンパク質などの生体分子の型を取ることで作成および複製することができる。

【産業上の利用可能性】**【0027】**

本発明に従った表面プラズモン共鳴センサーは、抗原抗体反応における相互作用の有無および程度の検出に有用であることはもちろん、種々の生化学反応の分析に応用することが可能である。

【図面の簡単な説明】**【0028】**

【図 1】従来の表面プラズモン共鳴センサーの概略側面図である。

【図 2】従来の表面プラズモン共鳴センサーにおける、入射光の入射角度と反射率との関係を示すグラフである。

【図 3】本発明の第 1 の実施形態にかかる表面プラズモン共鳴センサーの概略側面図である。

【図 4】金属層の表面に生じる電場を概念的に示す図である。

【図 5】表面プラズモンと入射光の分散関係を示すグラフである。

【図 6】ハイブリッドモードの表面プラズモンと入射光の分散関係を示すグラフであ

る。

【図 7】 本発明の実施形態において測定される反射率の測定結果を示すグラフである。

【図 8】 図 3 の表面プラズモン共鳴センサーの一部を拡大した図である。

【図 9】 本発明の第 2 の実施形態にかかる表面プラズモン共鳴センサーの概略側面図である。

【図 1 0】 本発明の第 3 の実施形態にかかる表面プラズモン共鳴センサーの概略側面図である。

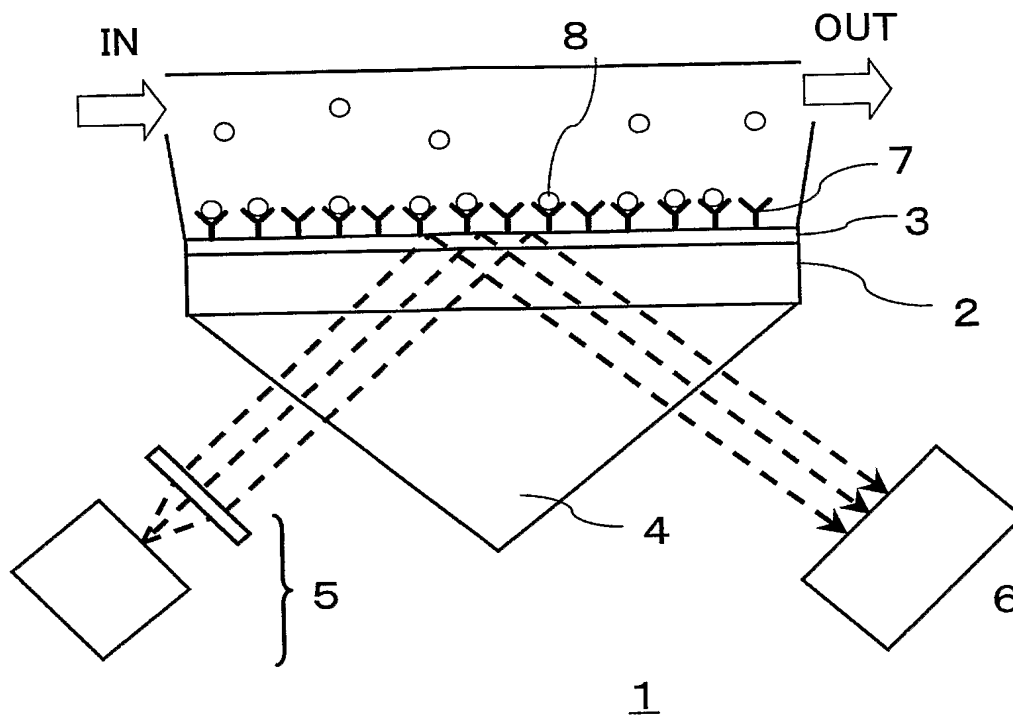
【符号の説明】

【 0 0 2 9 】

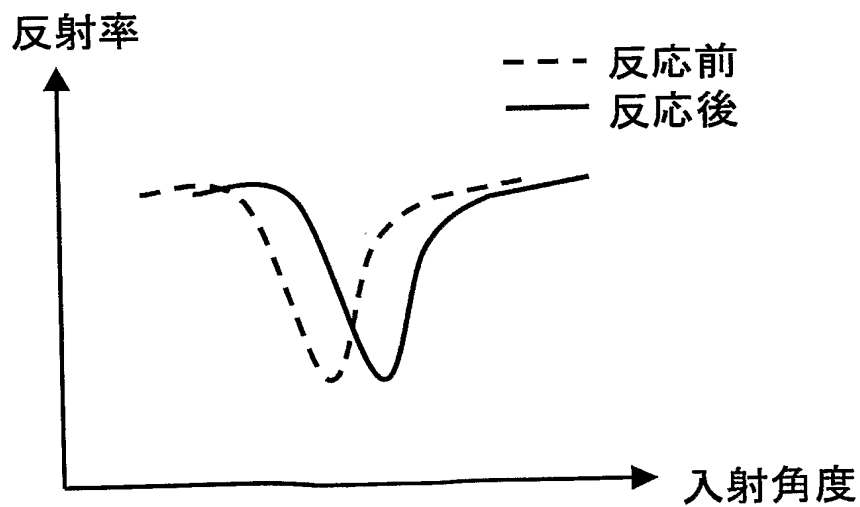
- | | |
|---------------------|---------------|
| 1、1 0 1、2 0 1、3 0 1 | 表面プラズモン共鳴センサー |
| 2、1 0 2 | 基板 |
| 3、1 0 3 | 金属層 |
| 4、1 0 4 | プリズム |
| 5、1 0 5 | 光学系 |
| 6、1 0 6 | 光検出器 |
| 7、1 0 7 | 受容体 |
| 8、1 0 8 | リガンド |

【書類名】 図面

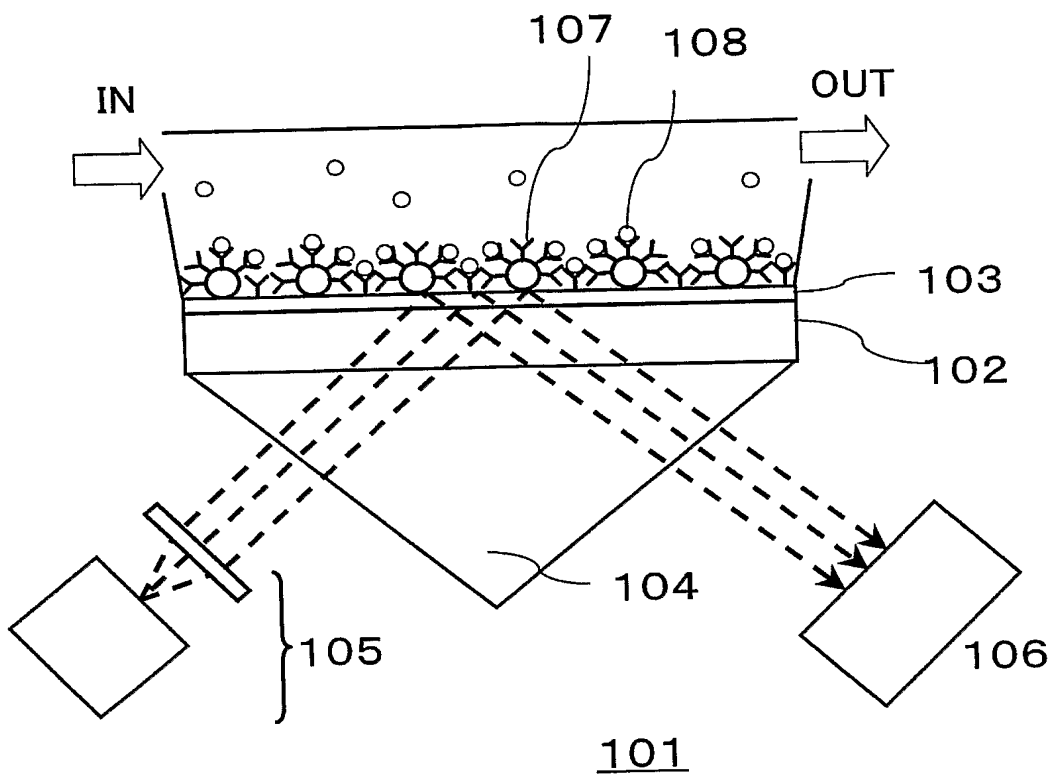
【図 1】



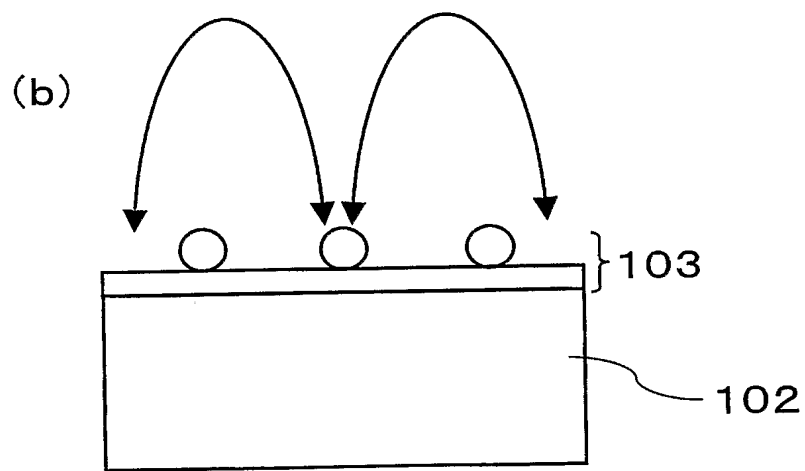
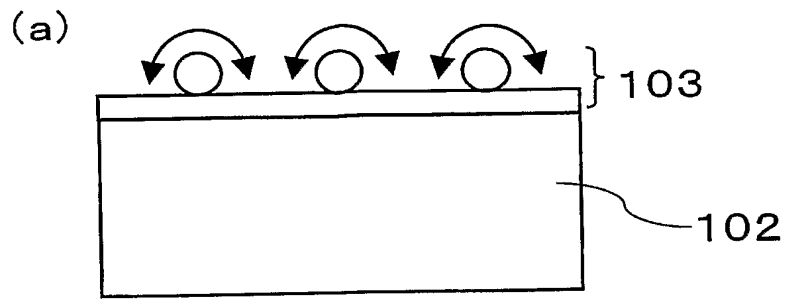
【図 2】



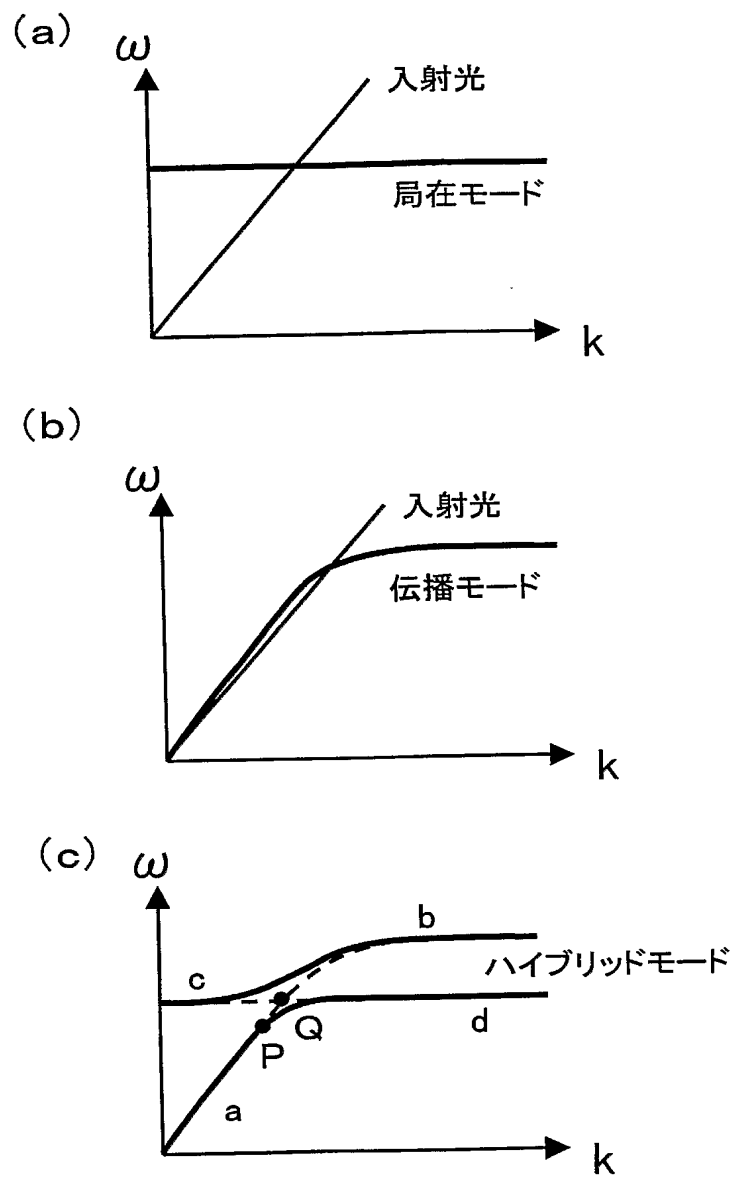
【図 3】



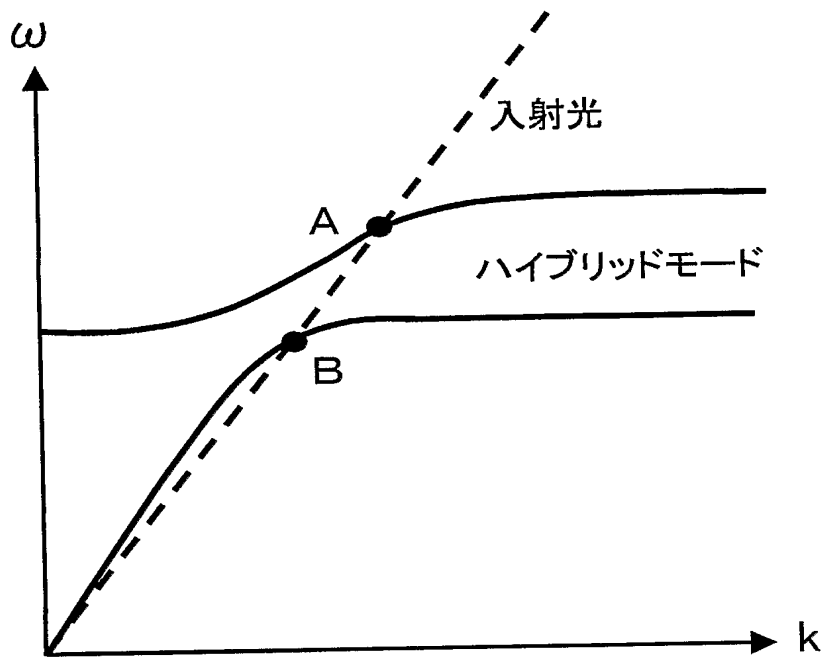
【図 4】



【図 5】

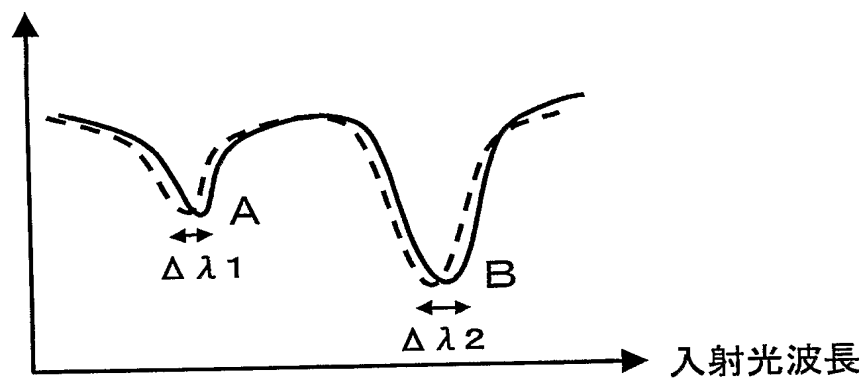


【図 6】

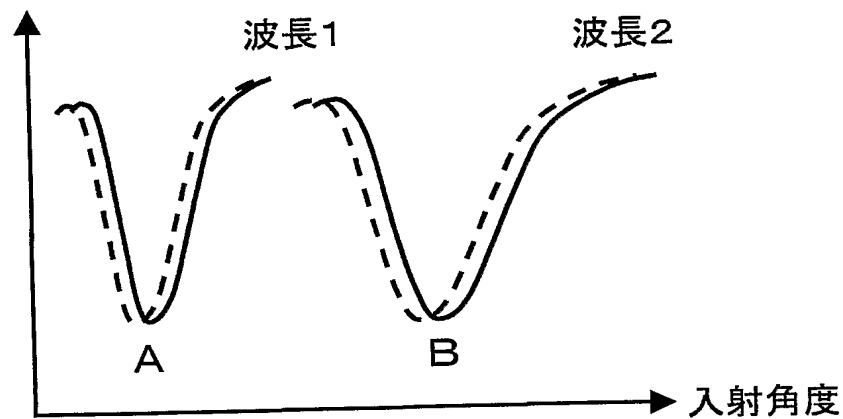


【図 7】

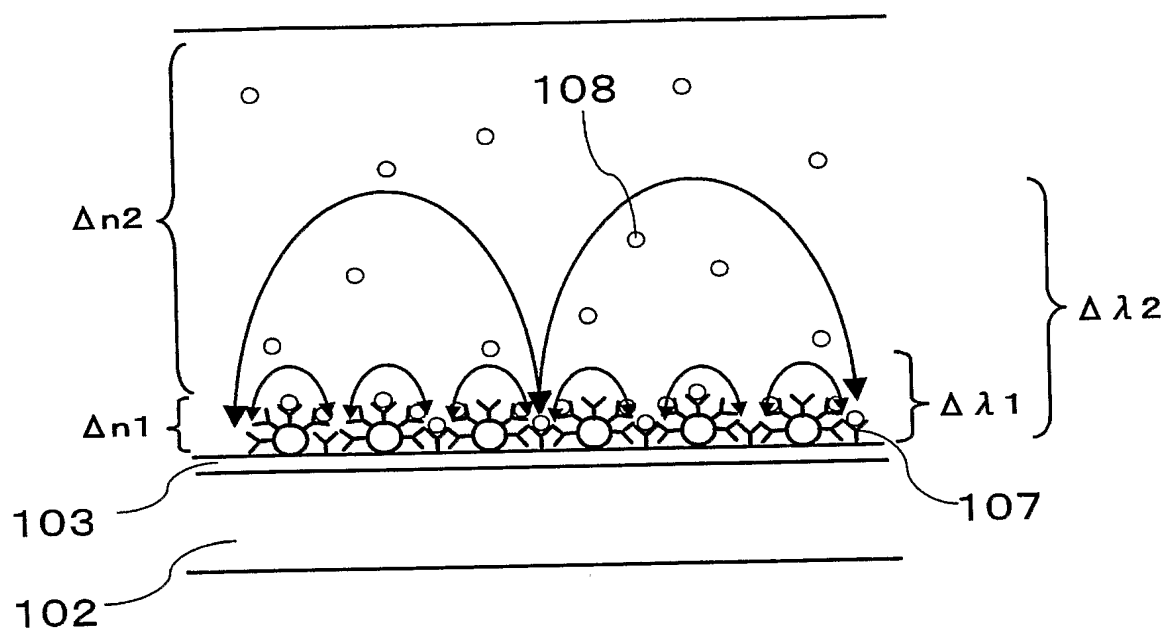
(a) 反射率



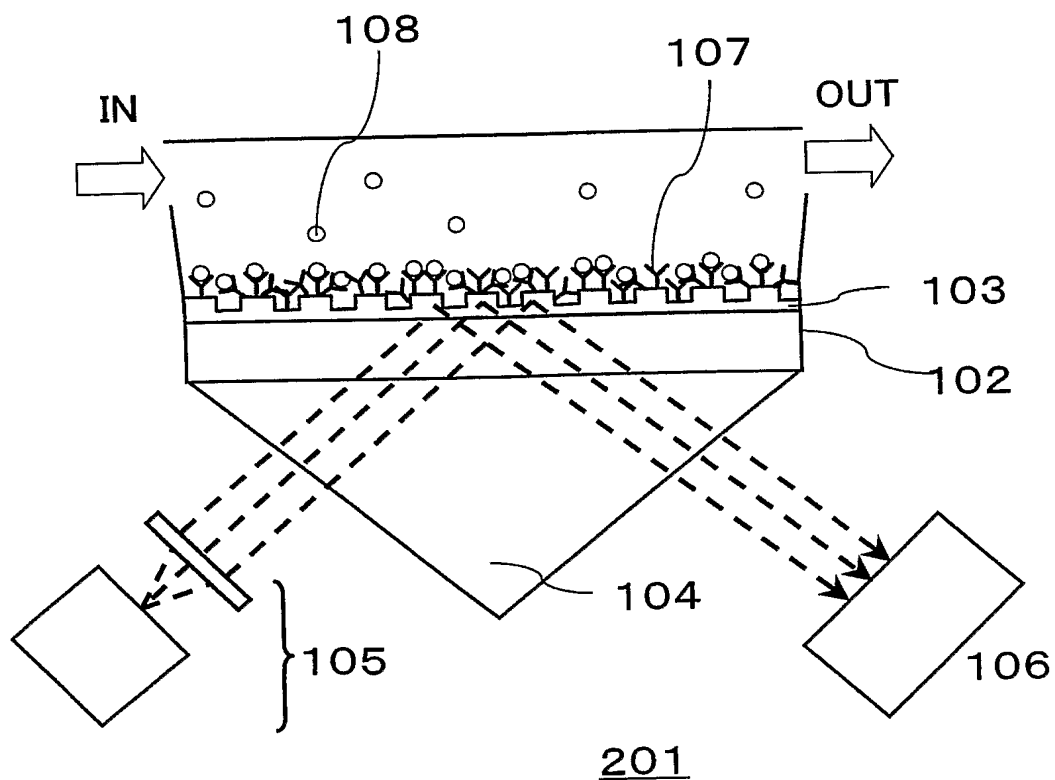
(b) 反射率



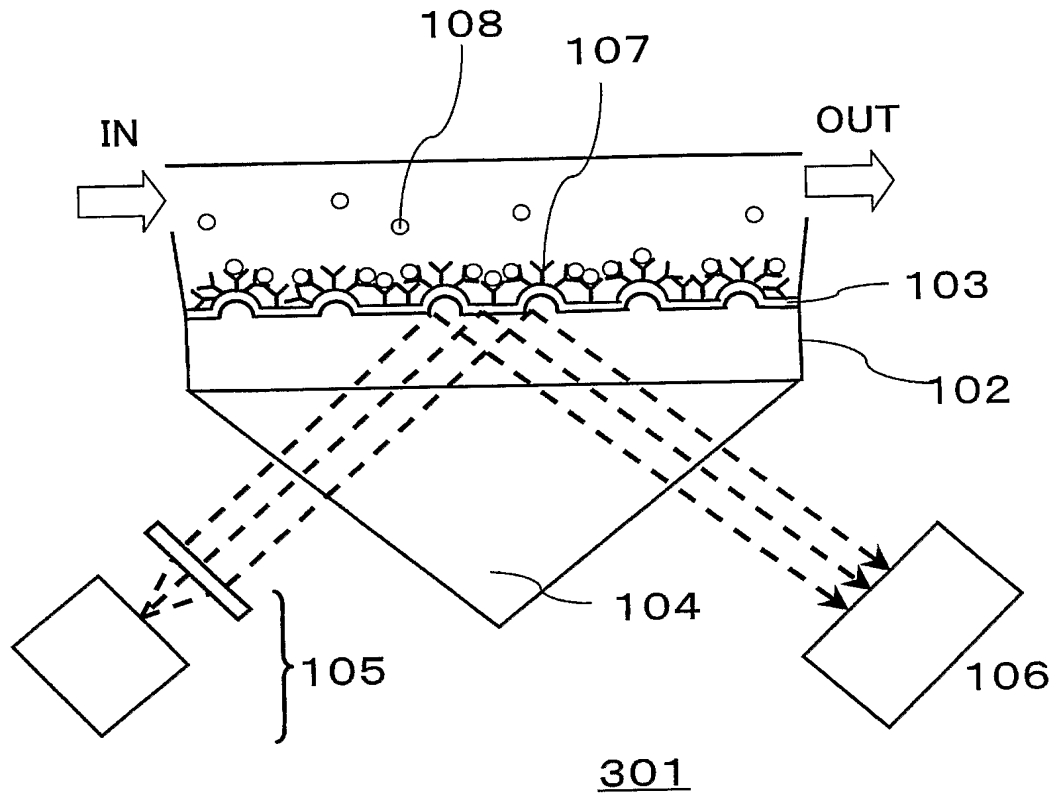
【図 8】



【図 9】



【図 10】



【書類名】要約書

【要約】

【課題】表面プラズモン共鳴センサーにおいて、金属表面での屈折率変化の検出精度を上げる。

【解決手段】基板および金属層を備えたチップと、プリズムと、光源と、光検出器とを備えた表面プラズモン共鳴センサーにおいて、金属層を、薄膜状に形成された平坦部と、互いに間隔を空けて配置された金属微粒子などからなる凸部とから構成する。このような構成の金属層に対して光を入射した場合、平坦部および凸部の各々に起因した共鳴角が得られる。

【選択図】図3

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2 0 0 4 - 0 3 6 4 2 4
受付番号	5 0 4 0 0 2 3 4 3 1 7
書類名	特許願
担当官	小松 清 1 9 0 5
作成日	平成 1 6 年 5 月 1 7 日

< 認定情報・付加情報 >

【提出日】 平成 16 年 2 月 13 日

特願 2 0 0 4 - 0 3 6 4 2 4

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[0 0 0 0 0 2 9 4 5]

1. 変更年月日
[変更理由]
住 所
氏 名

2 0 0 0 年 8 月 1 1 日
住所変更
京都市下京区塩小路通堀川東入南不動堂町 8 0 1 番地
オムロン株式会社